



Espectroscopia Raman: Análise do Perfil Bioquímico de Cepas Bacterianas de Importância Médica em Dermatite Atópica

Rogério Philippov¹, Camila Sorge¹, Claudio A Téllez¹, Sonia Khouri², Priscila Favero¹, Aírton A Martin¹

¹Universidade Brasil, São Paulo, Brasil.

²Universidade do Vale do Paraíba, São José do Campos, Brasil.
rogeriobiomedicina@gmail.com

Resumo, Motivação e Objetivo. A microbiota da pele humana é constituída por micro-organismos que podem estabelecer relação de simbiose com o hospedeiro ou evoluir para um grau de patogenicidade no momento em que ocorre o desequilíbrio da microbiota cutânea, seja por fatores genéticos, químicos ou ambientais. O presente estudo tem por objetivo investigar o perfil bioquímico de cepas bacterianas de importância médica no acometimento de Dermatite Atópica, por intermédio da Espectroscopia Raman.

Métodos. As amostras utilizadas para este trabalho foram cepas ATCC adquiridas comercialmente: *S. aureus* (25923), *S. epidermidis* (14990) e *S. pyogenes* (19615). Inicialmente as bactérias foram diluídas em 120 µL de NaCl 0,9% estéril e submetidas à análise por Espectroscopia Raman nas regiões entre 4000 a 100 cm⁻¹ com laser na faixa de 532 nm InVia Reflex Line Focus e Software Wire 4.4 Ranishaw com 1 acumulação e 100 segundos. Após a aquisição de dados, o tratamento dos espectros foi realizado por intermédio dos softwares Origin 8.5 e Ominic 6.2.

Resultados. Mediante a utilização da espectroscopia Raman, obteve-se a informação bioquímica, característica de cada um dos micro-organismos estudados, através da análise individual de cada pico (atribuição de bandas) e referente ao seu respectivo número de onda. A bactéria *Streptococcus pyogenes* apresenta por exemplo 3 bandas (1 das bandas por 2^a derivada) nas quais somente se encontram nela e não se encontram em outras 2 bactérias também analisadas, *S. aureus* e *S. epidermidis*. Citamos alguns números de onda como: 3065, 1900, 1870, 1604, 1580, 1129 (2^ader.) cm⁻¹. O mesmo ocorre com *S. epidermidis*, os números de onda 2332 e 1537 cm⁻¹ (ambos 2^a der.) somente se apresentam nesta bactéria, em *S. pyogenes* e *S. aureus* são ausentes. Destas 3 bactérias analisadas, muitas outras bandas encontram-se presentes em pelo menos 2 de cada uma delas e ausentes em 1, configurando desta forma as evidências de diferenças espectrais entre ambas, como por exemplo as bandas em 1917 cm⁻¹ estão presentes em *S. aureus* e *S. epidermidis* mas, não em *S. pyogenes* e por conta do número limitado de palavras neste resumo, não há como serem citadas todas as diferenças entre todas as bactérias. Figuras 1, 2 e Tabela 1.

Discussão e Conclusões. O presente teve como alvo apresentar por intermédio da espectroscopia Raman, bandas presentes na estrutura celular de alguns micro-organismos e ausentes em outros, como as olefinas, cadeias de metileno em membranas fosfolípídicas, triacilgliceróis, fenilalanina e amida III presentes no *S. pyogenes* e ausente em *S. aureus* e *S. epidermidis*. Fosfatidilinositol em *S. pyogenes*, como Pontes de Dissulfeto, L-Valina, L-Histidina, D-(+)-Dextrose (α-D-Glicose) em *S. epidermidis*. A caracterização e a identificação de certos componentes bioquímicos intrínsecos como aminoácidos, sínteses proteicas e de toxinas específicas presentes em muitos micro-organismos são de grande importância médica pois indica o possível fator de patogenia presente em órgãos vitais ou corrente sanguínea dos pacientes. A espectroscopia Raman, devido à sua analítica precisa, de rapidez, não subjetiva e de relativo baixo custo é de fato uma via de excelência

para qualquer tipo de diagnóstico na área biológica. Um fator limitante da técnica durante a análise neste trabalho, ocorreu em relação ao micro-organismo *P. aeruginosa*, no qual apresentou fluorescência durante a aquisição do seu espectro, decorrente da síntese de compostos intrínsecos característicos desse gênero de micro-organismo. De modo geral, a espectroscopia Raman foi desafiadora porém promissora para traçar o perfil bioquímico de amostras microbiológicas.

Figuras e Tabelas.

Figura 1. Diferenças entre bandas espectrais entre os micro-organismos *S.aureus*, *S.epidermidis* e *S.pyogenes*

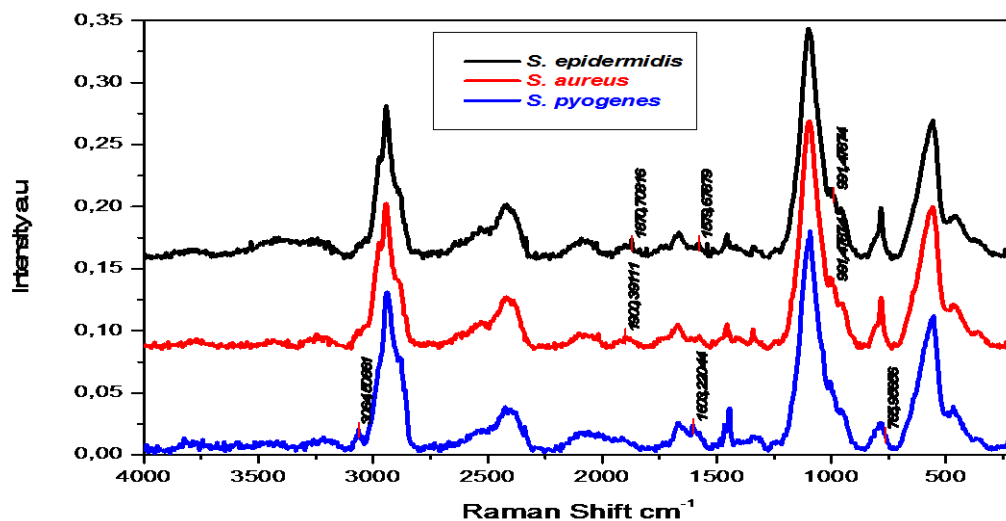


Figura 2. 2ª Derivada e diferenças entre bandas dos micro-organismos *S.aureus*, *S.epidermidis* e *S.pyogenes*

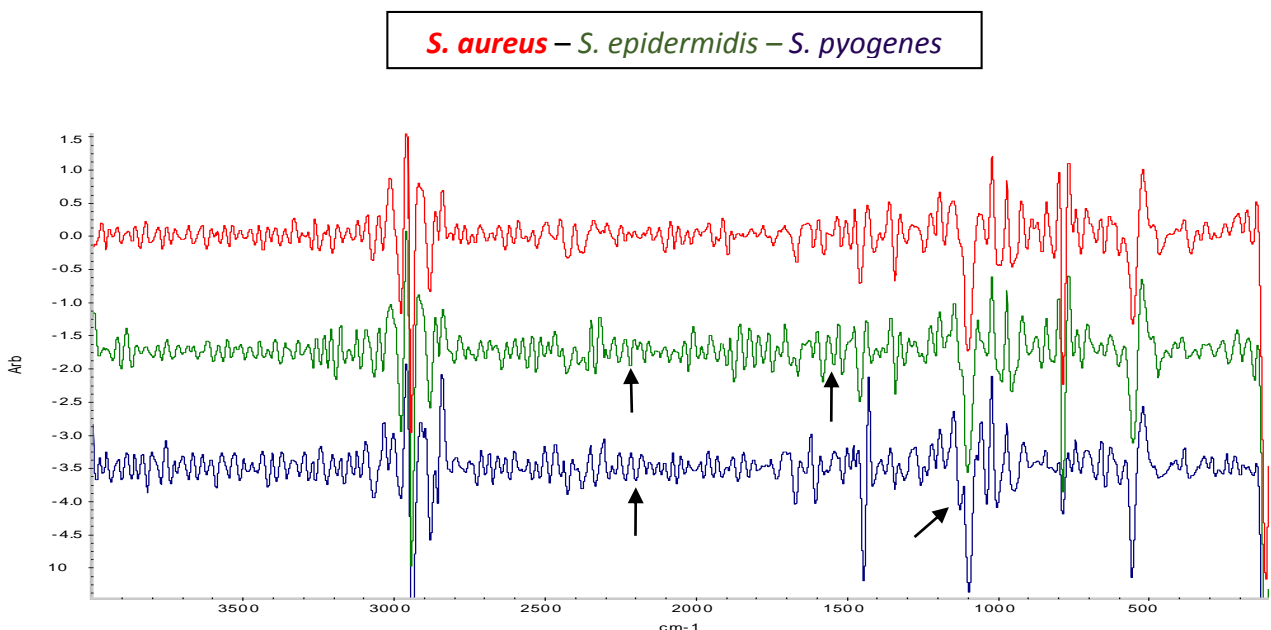


Tabela 1. Atribuições e diferenças entre bandas espectrais entre *S.aureus*, *S.epidermidis* e *S.pyogenes*

<i>S. pyogenes</i>	2ª Deriv.	<i>S.aureus</i>	2ª Deriv.	<i>S.epidermidis</i>	2ª Deriv.	Atribuição de Bandas
3065						$\nu(\text{CH}), \nu(\text{C}2)$ - Olefina [1,2]
		2975		2975		$\nu_{as}(\text{NH}), \nu(\text{CH})$ - Estiramento assimétrico de Metoxilo [1,3]
					2332	(OH), (NH), (CH)
		1917		1917		-----
		1900				-----
				1871		-----
1604						$\delta(\text{C}=\text{C}), \nu(\text{C}-\text{C})$ - Fenilalanina, Tirosina (Proteínas), Estiramento de Fenil [1,4]
				1580		$\nu(\text{C}-\text{C}), \delta(\text{C}=\text{C})$ - Estiramento de Anel Fenílico, Fenilalanina [5]
					1537	$\nu(\text{C}-\text{N}), \nu(\text{C}-\text{C})$ - Amida II, β -Sheet, [1]
	1129					$\nu(\text{C}-\text{N}, \text{C}-\text{C})$ - Amida III, Colágeno, Proteínas [6]
		1099		1099		$\nu(\text{PO}_2^-), \nu(\text{C}-\text{C}), \nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ - Fostato, Ligação Glicosídica [7]
1092						$\nu_s(\text{O}-\text{P}-\text{O}), \nu(\text{C}-\text{C})$ - Fosfolipídios, Ácidos Nucleicos (DNA-RNA) [8]
		992		992		(C-O), (C-C) - Ribose, Piridina, Anel de "Respiração" [9]
766						Anel de Respiração de Pirimidina [1]

Agradecimentos: CAPES. PROBES: Pesquisa, Inovação e Desenvolvimento. Dr. Fabio Godoi (Ranishaw).

Palavras Chave: Espectroscopia Raman; Dermatite Atópica; Bactérias; Microbiologia

Referências: BERNARD E, LI H. Shaping of cutaneous function by encounters with commensals. J Physiol. 2016 Mar 14. doi: 10.1113/JP271638

CAMPBELL D.J, KOCH M.A. Living in Peace: Host-Microbiota Mutualism in the Skin. Cell Host Microbe. 2017 Apr 12;21(4):419-420. doi:10.1016/j.chom.2017.03.012

CHRISTENSEN GJ, BRÜGGEMANN. H. Bacterial skin commensals and their role as host guardians.



XXVI Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica

Armação de Búzios – RJ – Brasil

October 21st to 25th, 2018

Benef Microbes. 2014 Jun 1;5(2):201-15. doi: 10.3920/BM2012.0062

SMEEKENS, S.P et al. Skin microbiome imbalance in patients with STAT1/STAT3 defects impairs innate host defense responses. J Innate Immun. 2014;6(3):253-62. doi: 10.1159/000351912

WEYRICH L.S et al. The skin microbiome: Associations between altered microbial communities and disease. Australas J Dermatol. 2015 Nov;56(4):268-74. doi: 10.1111/ajd.12253

1 - MOVASAGHI, Z *et al.* Raman Spectroscopy of Biological Tissues - Article in Applied Spectroscopy Reviews - July 2007 - DOI: 10.1080/05704920701551530

2 - HARZ, M *et al.* Micro-Raman Spectroscopic Identification of Bacterial Cells of the Genus Staphylococcus and Dependence on their Cultivation Conditions - The Royal Society of Chemistry - Received 1st June 2005, Accepted 31st August 2005 - First published as an Advance Article on the web 30th September 2005 - DOI: 10.1039/b507715j

3 - MOVASAGHI, Z *et al.* Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues - Applied Spectroscopy Reviews, 43: 134–179, 2008 - ISSN 0570-4928 print/1520-569X online - DOI: 10.1080/05704920701829043

4 - GELDER, J.D. Raman Spectroscopy as a Tool for Studying Bacterial Cell Compounds - Dissertation submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Doctor (Ph.D.) in Sciences, Chemistry – Universiteit Gent – Gent, 2007-2008 – cap. 8, pg. 146

5 - HUANG, N *et al.* Full Range Characterization of the Raman Spectra of Organs in a Murine Model - OPTICS EXPRESS 22892 - Received 8 Aug 2011; revised 6 Oct 2011; accepted 6 Oct 2011; published 27 Oct 2011 - DOI: 10.1364/OE.19.022892

6 - SATO, E.T - MARTINHO, H First-Principles Calculations of Raman Vibrational Modes in the Fingerprint Region for Connective Tissue Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Av. dos Estados 5001, Santo André-SP, 09210-580, Brazil - Vol. 9, No. 4 1 Apr 2018 Biomedical Optics Express 1729 - Received 20 Dec 2017; revised 2 Mar 2018; accepted 6 Mar 2018; published 15 Mar 2018 - DOI:10.1364/BOE.9.001728

7 - WILLETS, K.A - Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) for Probing Internal Cellular Structure and Dynamics - Received: 25 November 2008 /Revised: 29 January 2009 /Accepted: 4 February 2009 / Published online: 7 March 2009 Springer-Verlag 2009 - DOI: 10.1007/s00216-009-2682-3

DINH,-T.V *et al.* Biomedical Photonics Handbook - CRC Press Massachusetts, 2003, Cap. 65, Tab. 65.2.1. - ISSN: 0-8493-1116-0

8 - CHEN, Y *et al.*, Raman Spectroscopy Analysis of the Biochemical Characteristics of Molecules Associated with the Malignant Transformation of Gastric Mucosa - PLoS ONE 9(4): e93906. Received December 21, 2013; Accepted March 10, 2014; Published April 7, 2014 - DOI:10.1371/journal.pone.0093906

9 - DINH,-T.V *et al.* Biomedical Photonics Handbook - CRC Press Massachusetts, 2003, Cap. 65, Tab. 65.2.1. - ISSN: 0-8493-1116-0